



TITLE:

Glomerulosclerosis Induced by Deficiency of Membrane-Associated Guanylate Kinase Inverted 2 in Kidney Podocytes(Abstract_要旨)

AUTHOR(S):

Shirata, Naritoshi

CITATION:

Shirata, Naritoshi. Glomerulosclerosis Induced by Deficiency of Membrane-Associated Guanylate Kinase Inverted 2 in Kidney Podocytes. 京都大学, 2018, 博士(医学)

ISSUE DATE:

2018-05-23

URL:

<https://doi.org/10.14989/doctor.r13193>

RIGHT:

J Am Soc Nephrol. 2017 Sep;28(9):2654-2669. doi: 10.1681/ASN.2016121356. Final publication is available at <http://jasn.asnjournals.org/content/28/9/2654.full?sid=698adfab-238f-427a-b750-504ae36b634d>

京都大学	博士（ 医 学 ）	氏 名	白 田 成 俊
論文題目	Glomerulosclerosis Induced by Deficiency of Membrane-Associated Guanylate Kinase Inverted 2 in Kidney Podocytes (腎糸球体足細胞における MAGI-2 欠損による糸球体硬化)		
(論文内容の要旨)			
<p>本邦の慢性腎臓病(CKD)の患者数は約 1300 万人と推測され、治療法の開発は喫緊の課題である。CKD の進展を阻止するためには、腎糸球体の血液ろ過機能を維持する必要がある。ポドサイトは糸球体構成細胞の一つで、多くの足突起を有した特徴的な構造を持つ。足突起間のスリット膜は血液ろ過の最終バリアとして働くため、ポドサイト障害が蛋白尿や糸球体硬化を引き起こすことが分かっている。ゆえにポドサイト障害メカニズムの解明は、CKD の病態理解と治療薬開発のために重要である。</p> <p>MAGI-2 は神経細胞で同定された足場タンパクであり、ポドサイトにも発現することが知られている。全身性 MAGI-2 欠損マウスが無尿により新生児期に死亡することが近年報告され、MAGI-2 は足突起とスリット膜の形成に寄与することが示唆されたが、成体ポドサイトにおける MAGI-2 の役割は不明であった。そこで本研究では、ポドサイト特異的 MAGI-2 欠損マウス（以下 KO マウス）を作製し、表現型を解析した。</p> <p>この KO マウスは生後 1 ヶ月からアルブミン尿を呈し、糸球体硬化を経て生後 5 ヶ月以内に腎不全で死亡した。KO マウスのポドサイトではスリット膜および足突起が消失していた。したがって MAGI-2 がポドサイトの形態および腎機能の維持に必須であることが判明した。</p> <p>Dendrin はポドサイト障害時にスリット膜裏打ち部から核へ移行し、アポトーシスを促進する因子である。脳において dendrin は MAGI-2 と結合することが知られている。糸球体可溶化液を抗 dendrin 抗体で免疫沈降すると、内在性 MAGI-2 は dendrin と共沈降した。野生型および KO マウスにおける dendrin の局在を検討した結果、KO マウスのポドサイトでは dendrin の発現低下および核への集積を認め、ポドサイト数が減少していた。したがって MAGI-2 は dendrin に結合しその核移行を阻止することが考えられた。</p> <p>次に dendrin の分解・核移行メカニズムについて検討した。Yeast two-hybrid により、dendrin の新規結合因子としてチロシンキナーゼ Fyn とユビキチンリガーゼ Nedd4-2 を同定した。HEK 細胞を用いた免疫沈降の結果、dendrin は Fyn によってリン酸化され、Nedd4-2 によってユビキチン化された。リン酸化 dendrin では、脱リン酸化 dendrin に比べて、Nedd4-2 によるユビキチン化が減弱した。Fyn による dendrin のリン酸化は、チロシンホスファターゼ PTP1B によって抑制された。</p> <p>さらに抗リン酸化 dendrin 抗体を作製し、生体での dendrin のリン酸化レベルを検討した。野生型マウスのポドサイトでは dendrin はリン酸化されていたが、KO マウスの核内 dendrin は脱リン酸化されていた。したがって、生理的条件下では dendrin はリン酸化され MAGI-2 に結合した状態でスリット膜裏打ち部に局在するが、KO マウスのポドサイトでは dendrin は PTP1B によって脱リン酸化され、一部は Nedd4-2 によるユビキチン化を受けて分解され、一部は核移行しポドサイト</p>			

<p>アポトーシスを促進することが示唆された。</p> <p>最後に、半月体形成性腎炎モデルラットのポドサイトにおける MAGI-2 の発現および dendrin の局在を検討した。結果、糸球体障害時には MAGI-2 の発現が低下しており、一部の dendrin は核移行していた。したがって、ポドサイト障害を伴う病態モデルにおいても MAGI-2 が dendrin の局在を規定する可能性が考えられた。</p>
<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>腎糸球体構成細胞のポドサイトは、血液ろ過の最終バリアとして重要な役割を果たす。足場タンパク MAGI-2 は新生児期の腎臓においてスリット膜形成に関与することが知られているが、成体ポドサイトにおける MAGI-2 の機能を詳細に解析した報告はこれまでない。</p> <p>本研究ではポドサイト特異的 MAGI-2 欠損マウスを作製し、成体ポドサイトにおける MAGI-2 の機能を解析した。この欠損マウスはポドサイト形態異常を認め、糸球体硬化を経て腎不全に移行した。また、MAGI-2 欠損に起因するポドサイト障害には、dendrin がスリット膜裏打ち部から核移行することによるアポトーシス促進が関与することが明らかとなった。さらに、dendrin は Fyn および PTP1B によるリン酸化制御と Nedd4-2 によるユビキチン化制御を受けることによって、その局在およびタンパク分解が制御されていることが示唆された。</p> <p>以上の研究は、これまで不明であった、成体ポドサイトにおける MAGI-2 の機能の解明に貢献し、ポドサイト障害に起因する腎臓病進展機序の理解に寄与するところが多い。</p> <p>したがって、本論文は博士（医学）の学位論文として価値あるものと認める。</p> <p>なお、本学位授与申請者は、平成 30 年 3 月 30 日実施の論文内容とそれに関連した研究分野並びに学識確認のための試問を受け、合格と認められたものである。</p>